

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 04-178348

(43)Date of publication of application : 25.06.1992

(51)Int.Cl.

C07C 57/03

A61K 31/20

A61K 31/23

C08B 37/16

(21)Application number : 02-304032

(71)Applicant : NIKKEN CHEM CO LTD

(22)Date of filing : 13.11.1990

(72)Inventor : MASUYAMA ISAMU

(54) CLATHRATE COMPOUND OF EICOSAPENTAENOIC ACIDS

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a clathrate compound having extremely high stability and water solubility as compared with those of a clathrate compound in a nonbranched cyclodextrin which has been conventionally used by including eicosapentaenoic acids in branched cyclodextrin.

CONSTITUTION: One or more compounds selected from eicosapentaenoic acid (EPA), having physiological activity such as blood cholesterol lowering and antithrombotic action, etc., and useful for preventing and treating arteriosclerosis, alkali metallic salts and lower alkyl esters thereof, preferably EPA are included in branched cyclodextrin (branched CD), preferably branched β -CD such as glucosyl- β -CD or maltosyl- β -CD to simply afford a water-soluble and preferably powdery clathrate compound, useful as an additive, etc., for medicines, EPA-containing tablets, powder, dust and injection and nutriment imparting foods, etc., such as milk powder and having extra high stability.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平4-178348

⑬ Int.Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成4年(1992)6月25日

C 07 C 57/03
A 61 K 31/20
31/23
C 08 B 37/16

ABX

6742-4H
8413-4C
8413-4C
7624-4C

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全5頁)

⑮ 発明の名称 エイコサペンタエン酸類の包接化合物

⑯ 特 願 平2-304032

⑰ 出 願 平2(1990)11月13日

⑱ 発 明 者 増 山 勇 埼玉県蓮田市椿山4-21-4

⑲ 出 願 人 日研化学株式会社 東京都中央区築地5丁目4番14号

明 細 書

1. 発明の名称

エイコサペンタエン酸類の包接化合物

2. 特許請求の範囲

(1) エイコサペンタエン酸、そのアルカリ金属塩及びその低級アルキルエステルからなる群から選ばれる少なくとも1種の化合物を、分枝サイクロデキストリンで包接してなる包接化合物。

(2) エイコサペンタエン酸を分枝サイクロデキストリンで包接してなる包接化合物。

(3) 包接化合物が粉末状である請求項1又は2記載の包接化合物。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、有用な生理活性を有するエイコサペンタエン酸類の包接化合物に関し、更に詳細には、エイコサペンタエン酸、そのアルカリ金属塩及び低級アルキルエステルの包接化合物に関する。

(従来技術及びその問題点)

エイコサペンタエン酸(以下、EPAと記載す

る)は血中コレステロール低下作用、抗血栓作用等のいわゆる動脈硬化症の予防並びに治療において、その効果が認められている有用なものである。しかしEPAは油状であり、水溶性が低くまた自動酸化を受け易い等、取扱いの非常に厄介な物質である。特に、酸化についていえば、EPAは数パーセントでも酸化を受けると、特有の臭気や有害な過酸化脂質のため商品としての価値が失われてしまう。このため、これまでも分枝を有しないサイクロデキストリン(以下、非分枝CDと記載する)や乳化剤等の可溶性剤を利用した安定化、粉末化、水溶性化が試みられてきた。

非分枝CDによるEPAの包接方法には、従来から混練法及び飽和水溶液法が用いられており、特開昭58-13541、昭60-34156が知られている。

混練法は水の存在下に非分枝CDとEPAを接触させるだけであり、包接化合物を得るためには最も簡単な方法であるが、この方法では酸化安定性の優れた包接粉末を得ることは非常に難しい。

一方、飽和水溶液法により包接化合物を得る方法は、非分枝CDとEPAを含水アルコール中に加熱攪拌溶解後、5〜7時間かけてゆっくりと一定の速さで冷却しながら包接化合物の結晶を生成させるので、比較的安定な包接化合物を得ることができる。しかしこのためには、包接化合物を生成させるために相当な時間を要するばかりか、冷却速度が速すぎたり冷却ペースが一定に保てないと酸化安定性の優れた包接粉末が得られにくい欠点がある。このようなわけで安定な包接化合物を得るためには、冷却速度を厳格にコントロールする必要がある。更に、加熱攪拌の際、50〜70%のアルコール水溶液を使用するため、製造に際し防爆及び防火装置が必要となる。しかも得られた包接化合物は飲食物として扱うことが多いために、アルコールとしてエタノールを用いなければならず、生産コストへの影響が大である。

その上、非分枝CDを用いて混練法又は飽和水溶液法で得られた包接粉末は、水に殆ど溶解しないことから使用の際制約を受けざるを得ない。

る。

本発明で使用される分枝CDは、 α -CD、 β -CD、 γ -CD等のCDに、グルコース、マルトース、マルトトリオース等の小糖類が1分子又は2分子 α -1, 6結合したものであり、グルコース分子が1個結合したものをグルコシルCD（以下、 G_1 -CDと記載する）、2個結合したものをジグルコシルCD（以下、 $G_1 \cdot G_1$ -CDと記載する）、同様にマルトース分子が1個結合したものをマルトシルCD（以下、 G_2 -CDと記載する）、2個結合したものをジマルトシルCD（以下、 $G_2 \cdot G_2$ -CDと記載する）と称する。本発明では、好ましい分枝CDとして G_1 - β -CD、 G_2 - β -CD等の分枝 β -CDを挙げることができる。また、分枝CDは、2種以上の混合物としても使用することが出来る。

本発明の包接化合物は、分枝CDとエイコサペンタエン酸類とを水の存在下に接触させ、EPA酸類と分枝CDとの包接化合物を生成せしめ、所望によりこの包接化合物を乾燥、粉末化することに

一方、EPAの水溶性を向上させる手段として乳化剤等の可溶化剤を使用する方法があるが、このためには多量の乳化剤を必要とする上にこの方法では酸化安定性を図ることがまったく出来ない。（問題点を解決するための手段）

本発明者は上記問題点を解決すべく種々研究を重ねた結果、EPAを分枝サイクロデキストリンで包接させることにより、従来より用いられている非分枝CDの包接化合物には見られない、極めて安定性が高く且つ水溶性の包接化合物が簡単な方法で得られることを見出し本発明を完成した。

本発明はEPA、そのアルカリ金属塩及びその低級アルキルエステル（以下、エイコサペンタエン酸類と記載する）を分枝CDで包接してなる包接化合物である。

エイコサペンタエン酸類としては、EPA、EPAナトリウム、EPAカリウム等のEPAのアルカリ金属塩、EPAメチルエステル、EPAエチルエステル、EPAプロピルエステル等のEPAの低級アルキルエステルを使用することができ

より製造される。接触は、通常、分枝CDの水溶液にエイコサペンタエン酸類を添加し、ホモジナイザー等の攪拌装置で数分〜数十分攪拌することにより行われる。

エイコサペンタエン酸類の1分子は通常1分子の分枝CDと包接化合物をつくる。したがって本発明ではエイコサペンタエン酸類1モルに対し、通常0.1〜10倍モル、好ましくは、ほぼ等モルの分枝CDが使用される。

得られた包接化合物は、通常そのまま乾燥し粉末化することでエイコサペンタエン酸類の包接化合物含有粉末にすることが出来る。

また、本発明のエイコサペンタエン酸類の包接化合物（粉末）は、所望により、澱粉、ブドウ糖、乳糖、ガム質、セルロース等の添加剤を加えて加工することも出来る。

（実施例）

次に、参考例及び実施例を示し本発明を更に詳細に説明する。

参考例及び実施例中のEPA含量は次ぎのよう

にして測定した。即ち、試料を適量の50%エタノール水溶液に溶解後内部標準物質のメタノール溶液を一定量添加する。次に塩化メチレンにてEPA及び内部標準物質を抽出し、35℃以下で塩化メチレンを減圧留去後、ホフフ化メタノール錯体でメチル化を行い、ガスクロマトグラフィー（島津GC-14A、9011A、GC-R4A）により定量した。内部標準物質には α -リノレン酸を使用した。

(ガスクロ条件)

カラム=DEGS、キャリアーガス=窒素ガス、流量=40ml/分、検出器=FID、カラム温度=180℃

EPAメチルエステル含量の測定は、リノレン酸メチルを内部標準として、同一のガスクロ条件で実施した。

参考例1（非分枝CD・EPA包接化合物の調製）

(a)混練法A

α -CD又は β -CDの10%水溶液10ml（ β -CDはスラリー）にそれぞれ等モルのEPA（ナカライテスク製、純度99%）を添加してホモジナ

間かけて5℃まで冷却する。生成した沈殿をグラスフィルターにろ過して集め、60%メタノールで3回洗浄後、減圧乾燥して包接粉末を得た。

得量及びEPA含量を下記に示す。

	得量(g)	EPA含量(mg/g)
α -CD	0.87	140
β -CD	0.85	120

実施例1（分枝CD・EPA包接化合物の調製）

G_1 - α -CD、 G_1 - β -CD、 G_2 - β -CD及び分枝 β ミックスCD（ G_2 - β -CD 63% G_2 - β -CD 31%含有）のそれぞれ10%水溶液10mlに、分枝CDと等モルのEPAを添加し、室温下ホモジナイザーにて10000rpmで10分間包接後、0.45 μ mのミリポアフィルターで2回ろ過をくりかえし（2回のろ過で完全にクリアーな溶液が得られる。）、ろ液を凍結乾燥しEPAの包接化合物の粉末を得た。

得量及びEPA含量は下記の通りである。

イザーにて10000rpm、10分間混練後、生成した包接沈殿を遠心分離（遠沈）で集め、水洗、遠沈を3回くりかえした後沈殿部をそのまま凍結乾燥した。得量及びEPA含量は下記の通りである。

	得量(g)	EPA含量(mg/g)
α -CD	0.96	116
β -CD	0.97	178

(b)混練法B

γ -CD 1gに水0.7mlを加えスラリーとした後にEPA 1gを添加してメノウ製乳ばち上で30分間十分に混練した。減圧乾燥器で乾燥後クロホルムで洗浄を行いさらに減圧乾燥して包接粉末を得た。得量は0.95g、EPA含量は79mg/gであった。

(c)飽和水溶液法

α -CD又は β -CDのそれぞれ1gにEPA 0.2gを添加し、これに60%メタノール80mlを加え攪拌下加温溶解する。1時間遠沈した後、約5時

	得量(g)	EPA含量(mg/g)
G_1 - α -CD	0.93	43
G_1 - β -CD	0.95	85
G_2 - β -CD	0.94	79
分枝 β ミックスCD	0.94	73

実施例2

10%分枝CD水溶液10mlに当量量のEPAを加え、約3000rpmで攪拌しながら0.1M水酸化ナトリウムを少量ずつ添加してpHを弱アルカリ性（約9.5）とした後、10000rpmで10分間ホモジナイズを行う。次いで0.45 μ mミリポアフィルターにて2回ろ過を行い、ろ液を凍結乾燥してEPAナトリウムの包接化合物の粉末を得た。

EPA含量は、得られた粉末の一定量を水に溶解後、希塩酸で弱酸性としてから塩化メチレン抽出を行い、塩化メチレン相を水洗後35℃以下で減圧下に濃縮乾固し、以下前記と同じ方法で定量した。得量及びEPA含量は下記の通りである。

	得量(g)	EPA含量(mg/g)
G ₁ -β-CD	0.98	148
G ₂ -β-CD	0.96	142

実施例3

10%分枝CD水溶液10mlに当モル量のEPAメチルエステル(シグマ社製、純度99%)を加え、10000rpm、10分間ホモジナイズする。0.45μmミリポアフィルターにて2回ろ過後ろ液を凍結乾燥しEPAメチルエステルの包接化合物の粉末を得た。

EPAメチルエステル含量は、得られた粉末の一定量を水に溶解後塩化メチレン抽出を行い、定容後ガスクロマトグラフにて定量した。

得量及びEPAメチルエステル含量は下記のとおりである。

	得量	EPA/分枝CD含量
G ₁ -β-CD	0.91(g)	39(mg/g)
G ₂ -β-CD	0.89	27

分枝CD・EPA包接化合物(対照品)の37℃における保存安定性試験を実施した。

試料中のEPA含量を測定し、試験前の含量を100%として経時的に残存率を求めた。

結果を表2に示す。

表2. 37℃保存におけるEPA残存率(%)

	包接化原料	1日	3日	6日	10日	14日後
本発明品	G ₂ -β-CD	101	100	99	101	101
対照品	α-CD	54	53	52	50	48
	β-CD	80	79	76	73	70

実施例6(水溶性試験)

実施例1で調製した分枝CD・EPA包接化合物と、参考例1(a)及び(b)で調製したα-CD、β-CD及びγ-CDの包接化合物の水への溶解性を調べた。

溶解性の測定は、各試料0.1gを2mlの水に添加し、密栓して10分間振とう機で振とう溶解後、0.45μmのミリポアフィルターでろ過し、ろ液中に溶解したEPA量を定量することにより行った。

実施例4(安定性試験)

実施例1で調製した分枝CD・EPA包接化合物と、参考例1の混練法で調製した非分枝CD・EPA包接化合物(対照品)の37℃における保存安定性試験を実施した。

試料中のEPA含量を測定し、試験前の含量を100%として経時的に残存率を求めた。

結果を表1に示す。

表1 37℃保存におけるEPA残存率(%)

	包接化原料	1日	2日	5日	9日	14日後
本発明品	G ₁ -β-CD	99	101	102	99	100
対照品	α-CD	98	66	65	66	63
	β-CD	43	35	34	32	33
	γ-CD	89	83	69	57	43
	デキストリン*	0	0	0	0	0

*: デキストリンとEPAの単純混合物(10:1)

実施例5(安定性試験)

実施例1で調製した分枝CD・EPA包接化合物と、参考例1(c)の飽和水溶液法で調製した非

結果を表3に示す。

表3 EPA包接化合物の水への溶解性

	包接化原料	試料0.1g中のEPA	水に溶けたEPA
本発明品	G ₁ -α-CD	4.2	2.6mg
	G ₁ -β-CD	8.5	7.5
	G ₂ -β-CD	7.9	7.1
対照品	分枝β-CD	7.3	6.1
	α-CD	11.6mg	不溶
	β-CD	17.8	不溶
	γ-CD	7.9	不溶

(発明の効果)

本発明で得られたエイコサペンタエン酸類の包接化合物は、従来から用いられている非分枝CDによる包接化合物と比べて、安定性(実施例4及び5)及び水溶性(実施例6)が極めて高い。

したがって、本発明化合物は医薬品として、EPA類含有錠剤、散剤、粉剤及び注射剤として用いることが出来る。さらには、粉ミルク等の栄養付与食品等への添加剤として使用できる。更に、

水溶性EPAとして広く研究用試薬（例えば、培地添加剤）としての利用が可能である。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、EPAのG₂-β-CD包接化合物の水溶液の紫外線吸収スペクトルを示し、第2図は、同包接化合物のKBrによる赤外線吸収スペクトルを示す。

特許出願人 日研化学株式会社

